

## 第VI章 総合考察

本研究は、畑土壌における有機塩素系殺菌剤クロロタロニルの動態と生理作用を明らかにすることを目的とした。また、比較対照区に他の農薬を供試し、物性や生理活性の相違等から各種考察を加えた。

第2章では、パンライシメータ法を用いた砂質露地畑におけるクロロタロニルの鉛直浸透状況について調査した。地下水の水質の汚濁に係る要監視項目では、クロロタロニルの指針値が $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 以下となっている（環境省水環境部長、2004）。また、本研究を実施した砂質露地畑は、有機炭素含量と粘土含量が低いことから、農薬が最も鉛直浸透しやすい土壌条件と考えられる。その結果、クロロタロニルは、地表下50cmにおいて土壌浸透水中から検出されなかった。また、クロロタロニルは試験終了時に土壌中から検出されなかった。奴田原ら（1990）は、土性が異なる4種の土壌を充填したカラムを用いて農薬鉛直浸透に関する試験を実施し、100mm灌水後でもクロロタロニルの大部分は表層から5cmに留まったことを報告している。また、環境省が公表している地下水水質の測定結果では、平成6～15年に全国で延べ2000以上の井戸が調査されているが、クロロタロニルの濃度が指針値を超過した井戸はない（環境省環境管理局水環境部、2004）。これらのことから、地下水におけるクロロタロニルの濃度が上述の指針値を上回る可能性は低いと考えられた。今後は、施用量がより多い土壌処理剤を想定した試験が必要と考える。

農薬の鉛直浸透を屋外で評価する方法としては、大別して土壌浸透水を採取する方法と土壌を採取する方法がある。前者にライシメータ法（丸、1991；中村、1993）、パンライシメータを含む埋設型ライシメータ法（金子・山本、1999；金子、2002；金子ら、2002；谷川・西村、1999；山本ら、1998；山本ら、2000；山本ら、2001；山本ら、2005）およびポーラスカップ法があり（Suzuki、2000）、後者に土壌コア法がある（荻山ら、2002）。また、複数のライシメータを設置して土壌浸透水を採取すると共に、その内数基を定期的に回収し、層別に土壌採取した事例もある（Weber・Keller、1994）。それぞれの方法の特徴としては、ライシメータ法では物質収支を測定することに最も適し、埋設型ライシメータ法では壁面の影響が無く、パンライシメータ法では土壌の成層構造を破壊しない、ポーラスカップ法は最も簡便であり、土壌コア法では鉛直浸透し難い農薬や土壌条件でも浸透状況を確実に把握できること等が挙げられる。このように、農薬鉛直浸透の調査方法はそれぞれ特徴があり、研究の目

的、供試薬剤、土壌条件などにより選択するべきと考える。また、これら調査法を補完し、精度をさらに高めるために、本研究で用いた $\text{Cl}^{-}$ など水分移動を把握するトレーサーを投入する、ダルシーの法則を用いて土壌浸透水量を推定する（フラックス法）、蒸発散量を含む水収支を把握するといった他の手法を併用することが望まれる（長谷川、2002）。

また、第2章では、クロロタロニルを含めて、供試農薬の分解産物は対象としなかった。しかし、農薬の分解産物は、親化合物と比べて鉛直浸透し易い場合がある（Somasundaram、1991）。クロロタロニルの主要分解産物TPN-OHについても、クロロタロニルと比べて鉛直浸透しやすいことが報告されている（元永ら、2001）。今後、農薬の鉛直浸透を調査するに当たっては、分解産物の挙動や分解機構に及ぼす環境要因、物質収支などを視野に入れる必要がある。

第3章においては、畑土壌におけるクロロタロニルの消失に関与する要因の寄与を判断する手法として、炭素同位体分別の利用を採り上げた。本研究により、畑土壌におけるクロロタロニル消失過程において炭素の安定同位体自然存在比が上昇し、同位体分別が生じていることが明らかとなった。

今後の課題としては、クロロタロニルの分解や移動など消失に関与する要因ごとに同位体分別の有無を確認すると共に、農地と環境における挙動解析への利用、他の農薬への応用などが考えられる。

第4章では、土壌中の窒素循環の中で重要な位置を占める硝酸化成を採り上げ、クロロタロニルが土壌中のアンモニア酸化に及ぼす影響を検討した。その結果、クロロタロニルは、土壌中のアンモニア酸化を強く阻害した。

硝酸化成に対するクロロタロニルの影響については、現在までに幾つか報告されているが、その評価は分かれている。高木（1991）は、クロロタロニルの長期連用圃場において土壌中の硝酸化成能が著しく低下したことを報告しており、本研究の結果と一致する。一方、加藤・豊田（1991）とTu（1993）は、クロロタロニルによる土壌中の各種微生物活性への影響を調査する中で、硝酸化成阻害は認められなかったとしており、本研究の結果と一致しない。この理由としては、本研究では土壌中のアンモニア酸化阻害に焦点を当て、施肥に該当する $\text{NH}_4\text{-N}$ を供試土壌に添加したのに対し、加藤らとTuは、広範囲の土壌微生物に対する影響を調査するために $\text{NH}_4\text{-N}$ を添加しなかったことが挙げられる。すなわち、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を

供試土壌に添加しなかったためにクロロタロニル添加土壌と無添加土壌における硝酸化成の差を検出できなかったものと考えられる。今後は、土壌中の硝酸化成におけるもう一つの微生物反応である亜硝酸酸化能についてもクロロタロニルの影響を検証する必要がある。

ペンタクロロフェノール(農林水産省登録名PCP)は、除草剤及び殺菌剤として用いられたが、硝酸化成抑制剤としても期待され、農薬肥料として市販されていた(橋本・岡田, 1964; 栗原, 1991)。本研究においてクロロタロニルは、添加量  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  以上で土壌の $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量と $(\text{NO}_2+\text{NO}_3)\text{-N}$ 含量の両方に影響したが、これはペンタクロロフェノールと同じレベルである(Hellingら, 1971)。このように、クロロタロニルも他の条件を満たせば、新たに硝酸化成抑制剤としての利用が考えられる。しかし、硝酸化成抑制剤が具備すべき条件の一つに人畜、魚及び作物に対して毒性を示さないことが挙げられる(栗原, 1991)。クロロタロニルは、魚毒性がC類と高いこと(米山ら, 1990)、また、長期連用により土壌中での分解速度が低下し、残留性が高まるとの報告があることから(Katayamaら, 1991; Takagiら, 1991; 高木, 1991)、硝酸化成抑制剤としての利用は適当ではないと判断する。

現在までに、クロロタロニル施用による植物体への影響としては、長期連用による雑草植生の単純化と生育抑制が報告されており、原因の一つとして土壌の窒素代謝の攪乱が指摘されている(Takagiら, 1991; 高木, 1991)。

第5章では、クロロタロニルの施用が作物生育に及ぼす影響をコカブとホウレンソウを用いて検証した。その結果、ホウレンソウの品質には影響を及ぼさなかったが、コカブの生育量が減少した。このことから、クロロタロニルの施用は、土壌中のアンモニア酸化を阻害し、作物の生育を抑制する場合があると考えられた。クロロタロニルによる土壌中のアンモニア酸化阻害による作物生育抑制の対策としては、硝酸化成抑制剤配合肥料の施用を控える、施肥窒素における硝酸態の比率を高める、土壌におけるクロロタロニルの分解を促進し、アンモニア酸化能の回復を図るために有機物を圃場に施用するといったことが考えられる(高木, 1991; 孫ら, 1985)。

本研究により、現在広く普及し、今後も殺菌剤として重要な位置を占めるクロロタロニルについて、農業生産と環境保全の両面からより適切な使用方法を策定するための知見を得ることができた。農業生産を維持する上で必要不可欠な資材である農薬を有効に使用するには、使用者が農薬の利便性と危険性を十分に理解することが重要である。今後、農地と環境における農薬の動態と生理作用に関する研究をさらに進めるとともに、使用者であ

る農業者に積極的に情報を提供し、より適切な使用方法の実践を促す必要がある。

## 要 旨

本論文は、我が国で使用されている代表的な殺菌剤クロロタロニル(tetrachloroisophthalonitrile)を採り上げ、畑土壌における動態と生理作用を明らかにすることを目的とした。また、比較対照区に他の農薬を供試し、物性や生理活性の相違から各種考察を加えた。

第1章では、環境における農薬動態に関する課題を整理し、供試薬剤としてクロロタロニルを採り上げた理由を述べるとともに、本研究の目的を示した。

第2章では、パンライシメータ法を用いて砂質露地畑における農薬の鉛直浸透量を測定した。パンライシメータの集水パン(30×30cm)は、地表下50cmに設置した。試験期間中(125日間)における総土壌浸透水量は608.2mmで、総降水量の65%に相当した。供試農薬はクロロタロニル、シマジン、ダイアジノン、メトラクロール及びジメトエートとし、トレーサーとして $\text{Cl}^-$ を用いた。その結果、土壌浸透水中からは、クロロタロニル、ダイアジノン及びメトラクロールが検出されず、ジメトエートとシマジンが最高でそれぞれ $18.4 \mu\text{g L}^{-1}$ と $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ 検出された。試験期間における総農薬鉛直浸透量は、ジメトエートが $2.99 \text{ mg m}^{-2}$ 、シマジンが $0.33 \text{ mg m}^{-2}$ であり、流出率はそれぞれ3.5%と0.4%であった。

第3章では、環境中の農薬の炭素同位体分別の存在を確認するため、畑土壌における農薬の炭素安定同位体自然存在比の経時変化を測定した。クロロタロニルを淡色黒ボク土に添加( $50 \text{ mg kg}^{-1}$ )し、暗黒条件下、30℃で70日間培養した。クロロタロニルの $\delta^{13}\text{C}$ 値は、培養期間中に-26.5‰から-22.5‰にまで上昇した。この時の濃縮係数は、-2.6‰であった。以上から、畑土壌における本薬剤の消失過程において炭素同位体分別が生じていることが確認された。

第4章では、10種の殺菌剤による土壌中のアンモニア酸化阻害活性を確認し、その中で顕著な活性を示したクロロタロニルの阻害活性について詳細に検討した。供試薬剤の中で、クロロタロニルとチウラムは土壌中のアンモニア酸化阻害活性が高かった。これらに比べ、トリフルミゾール、トルクロホスメチル、イプロジオン、フルトラニル、ヘキサコナゾール、イソプロチオラン、ペノミルおよびメトラキシルは、阻害活性が低いか、または認められなかった。クロロタロニルによる土壌中のアンモニア酸化阻害は、ジシアンジアミドと比べて長く持続した。また、その活性は添加量に依存し、添加量が5

mg kg<sup>-1</sup>以上のときに土壌のNH<sub>4</sub>-N含量と(NO<sub>2</sub>・NO<sub>3</sub>)-N含量の両方に影響を及ぼした。クロロタロニルの畑土壌における主要分解産物4-ヒドロキシ-2,5,6-トリクロロイソフタロニトリル(TPN-OH)は、土壌中のアンモニア酸化を阻害するが、その活性はクロロタロニル及びジシアンジアミドと比べて低かった。クロロタロニルの類縁化合物テトラクロロテレフタロニトリル(TTPN)による土壌中のアンモニア酸化阻害活性は、クロロタロニルと比べて低かった。他の類縁化合物1,2,3,5-テトラクロロベンゼン(TCB)、イソフタロニトリル(IPN)、テレフタロニトリル(TePN)、フタロニトリル(PN)及びベンゾニトリル(BN)は、いずれも土壌中のアンモニア酸化を阻害しなかった。アンモニア酸化細菌集積土壌において、クロロタロニル区(添加量100mg kg<sup>-1</sup>)のアンモニア酸化細菌数は、クロラムフェニコール区(添加量500mg kg<sup>-1</sup>)と比べて急激に低下した。以上から、クロロタロニルは、土壌中のアンモニア酸化阻害活性が高いこと、構造中のニトリル基と塩素の存在がアンモニア酸化阻害に必須であり、それらの分子内での配置が阻害活性の強度に大きく関与すること、クロラムフェニコールと比べてアンモニア酸化細菌に対して致死的に作用することが明らかとなった。

第5章では、クロロタロニルの農薬登録上の対象作物であるコカブについて、クロロタロニルの施用が作物の生育量と施肥窒素の吸収に及ぼす影響を実際に調査した。また、クロロタロニルによる土壌中のアンモニア酸化阻害作用がハウレンソウの生育量と品質に及ぼす影響についても併せて検討した。クロロタロニル施用区におけるコカブの生育量は、クロロタロニル無施用区と比べて減少した。この時の減少率は、草丈8.49%、生重23.8%、乾物重22.3%、窒素吸収量19.0%、施肥窒素吸収量22.1%であった。クロロタロニル施用区におけるハウレンソウの生育量、(NO<sub>2</sub>・NO<sub>3</sub>)-N含量、水溶性シュウ酸含量および還元型アスコルビン酸含量は、クロロタロニ

ル無施用区と差がなかった。以上から、クロロタロニルの施用はコカブの生育量を抑制することが明らかとなり、クロロタロニルによる土壌中のアンモニア酸化阻害の関与が示唆された。一方で、ハウレンソウの生育量と品質関連成分では、クロロタロニル施用による影響は認められなかった。

第6章では、各章で得られた知見を踏まえ、農薬の環境動態調査法やクロロタロニルの安全使用に向けた提言をした。

## 謝 辞

本研究を実施するに当たり、独立行政法人農業技術研究機構(現 農業・食品産業技術総合研究機構)中央農業総合研究センター藤原伸介博士と田中福代博士に御指導を賜った。独立行政法人農業環境技術研究所高木和広博士には、土壌におけるクロロタロニルの挙動に関する貴重な御助言を賜った。千葉県農業総合研究センター(現 千葉県農林総合研究センター)金子文宜博士には、終始懇切丁寧な御指導を賜った。また、同センター(現 樹化学分析コンサルタント)丸 論博士には、環境中の農薬動態研究に関する貴重な御助言を賜った。

本研究のとりまとめに当たっては、宇都宮大学教授(現 名誉教授)竹内安智博士、東京農工大学大学院教授(現 名誉教授)安部 浩博士、宇都宮大学教授奥田誠一博士、茨城大学教授(現 名誉教授)河野芳樹博士、宇都宮大学教授米山弘一博士、千葉県農業総合研究センター(現 千葉県農林総合研究センター)松丸恒夫博士の御指導を賜った。

本研究の実施に当たり、千葉県農業試験場、農業総合研究センター(現 農林総合研究センター)の職員各位、特に生産環境研究室と生産環境部環境機能研究室の皆様にご多大なる御支援を賜った。ここに記して深く感謝の意を表する。

## 引用文献

- 赤井直彦・石橋英二・大家理哉・森次真一 (2001). 牛尿への硝酸化成抑制剤添加が草地からの環境負荷に及ぼす影響. 土肥誌. 72 : 206-213.
- 秋山博子 (2005). 4-Ⅲ黒ボク土畑からの $N_2O$ , NOおよび $NO_2$ のフラックスのモニタリングと発生削減. 続・環境負荷を予測する. 波多野隆介・犬伏和之編. pp.187-204. 博友社. 東京.
- Bloom, Y., Aravena, R., Hunkeler, D., Edwards E. and Frappe, S. K. (2000). Carbon isotope fractionation during microbial dechlorination of trichloroethene. *cis*-1,2-dichloroethene and vinyl chloride: implications for assessment of natural attenuation. *Environ. Sci. Technol.* 34 : 2768-2772.
- 朴光来・山本洋司・中西康博・熊澤喜久雄 (1996). アンモニウム溶液よりのアンモニア揮散に伴う残留アンモニア態窒素の $\delta^{15}N$ 値の変化. 土肥誌. 67 : 314-316.
- British Crop Protection Council (2000). 141 chlorothalonil. In: *The Pesticide Manual* 12th ed. (C. D. S. Tomlin ed.) pp.168-169. British Crop Protection Council. Farnham.
- Caseley, J. C. and Broadbent F. E. (1968). The effect of five fungicides on soil respiration and some nitrogen transformations in Yolo fine sandy loam. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 3 : 58-64.
- 千葉県 (1978). 全国土壌統名:長崎. 地力保全基本調査総合成績書. pp.152-153.
- 千葉県 (2005). Ⅲ土壌分析及び測定法. 土壌、水質及び作物分析診断. 千葉県農林水産技術会議技術調整部会土壌・肥料分科会編. pp.10-107. 千葉県農林水産技術会議. 千葉.
- Corke, C. T. and Thompson F. R. (1970). Effects of some phenylamide herbicides and their degradation products on soil nitrification. *Can. J. Microbiol.* 16 : 567-571.
- Debona, A. C. and Audus L. J. (1970). Studies on the effects of herbicides on soil nitrification. *Weed Res.* 10 : 250-263.
- Gustafson, D. I. (1989). Groundwater ubiquity score; A simple method for assessing pesticide leachability. *Environ. Toxicol. Chem.* 8 : 339-357.
- 長谷川周一 (2002). I 土壌浸透水のモニタリングと予測. 環境負荷を予測するーモニタリングからモデリングへ. 長谷川周一・波多野隆介・岡崎正規編. 13-22. 博友社. 東京.
- 橋本雄司・岡田秀男 (1964). 複合肥料に混入したPCPの作物への影響 (水稲の元肥の場合). 土肥誌. 35 : 90-94.
- 平成6年政令 (1994). 第308号.
- 平成11年法律 (1999a). 第86号.
- 平成11年法律 (1999b). 第112号.
- 平成15年法律 (2003). 第55号.
- Helling, C. S., Kearney, P. C. and Alexander M. (1971). Behavior of pesticides in soils. *Adv. Agron.* 23 : 147-240.
- 樋口太重 (1999). 2. 硝化抑制材と肥効. 加除式農業技術体系土壌施肥編7-①. pp.147-150. 農文協. 東京.
- Hunkeler, D., Aravena, R. and Butler, B. J. (1999). Monitoring microbial dechlorination of tetrachloroethene (PCE) in groundwater using compound-specific stable carbon isotope ratios: Microcosm and field studies. *Environ. Sci. Technol.* 33 : 2733-2738.
- 池田英男・大沢孝也 (1980). 施用窒素形態とそ菜の適応性 (第2報) 水耕栽培において硝酸, アンモニア, 亜硝酸を窒素源とした葉菜の生育並びにアンモニア態及び硝酸態窒素蓄積の差異. 園学雑. 48 : 435-432.
- 池田英男・大沢孝也 (1981). 施肥窒素形態とそ菜の適応性 (第3報) 水耕栽培において $NO_3$ ,  $NH_4$ ,  $NO_2$ をN源とした根菜の生育並びに $NH_4-N$ 及び $NH_3-N$ 蓄積の差異. 園学雑. 49 : 563-570.
- 石谷秋人 (1997). 2 農薬の登録と取り締まり. 植物防疫講座第3版ー雑草・農薬・行政編ー. pp.479-488. 日本植物防疫協会. 東京.
- 岩田正利 (1958). 窒素形態の差異と蔬菜の生育 (第2報) 各種形態窒素の施用濃度がコカブの生育に及ぼす影響. 園学雑. 27 : 21-31.
- JA全農千葉 (2005). 肥料品目特性一覧. 126pp. 千葉.
- JA全農肥料農薬部農薬技術・安全課編 (2004a). 葉害注意事項解説. クミアイ農薬総覧2005. pp.1895-1970. 全国農村教育協会. 東京. 2004.
- JA全農肥料農薬部農薬技術・安全課編 (2004b). 有効成分特性一覧表, クミアイ農薬総覧2005. pp.1975-2054. 全国農村教育協会. 東京.
- 各務原市地下水汚染研究会 (1990). 第4章農薬. 各務

- 原台地の地下水汚染. pp.236-246.
- 甲斐秀昭 (1994). 第11章土壌の生化学. 土の微生物. 微生物研究会編. pp.341-387. 博友社. 東京.
- Kanazawa, J. (1989). Relationship between the soil sorption constants for pesticides and their physicochemical properties. *Environ. Toxicol. Chem.* **8** : 477-484.
- 金澤 純 (1992). 第5章農薬の土壌中における動態. 農薬の環境科学. pp.93-140. 合同出版. 東京.
- 金澤 純編 (1996). 農薬の環境特性と毒性データ集. 382pp. 合同出版. 東京.
- 金子文宜・山本幸洋 (1999). パンライシメーター法による砂質露地畑における窒素収支の測定. 土肥誌. **70** : 190-193.
- 金子文宜 (2002). II 黒ボク露地畑における硝酸態窒素溶脱のモニタリング. 環境負荷を予測する—モニタリングからモデリングへ—. 長谷川周一・波多野隆介・岡崎正規編. pp.23-36. 博友社. 東京.
- 金子文宜・大塚英一・山本幸洋・大谷邦洋・犬伏和之・戴 偉 (2002). パンライシメーター法による関東ローム堆積露地畑における土壌水および硝酸態窒素の浸実態. 土肥誌. **73** : 501-507.
- 環境庁 (1993). 環境庁告示第16号.
- 環境庁 (1997). 環境庁告示第10号.
- 環境庁 (1999a). 環境庁告示第14号.
- 環境庁 (1999b). 環境庁告示第16号.
- 環境庁 (2000). 内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について—環境ホルモン戦略計画SPEED'98—2000年11月版. pp.35-36.
- 環境省環境管理局水環境部 (2004). 平成15年度地下水質測定結果. 50pp.
- 環境省水環境部長 (2004). 環水企発第040331003号, 環水土発第040331005号.
- Katayama, A., Isemura, H. and Kuwatsuka, S. (1991). Suppression of chlorothalonil dissipation in soil by repeated application. *J. Pestic. Sci.* **16** : 233-238.
- Katayama, A., Mori, T. and Kuwatsuka, S. (1995). Abiotic dissipation of chlorothalonil in soil accelerated by amendment with high applications of farmyard manure. *Soil Biol. Biochem.* **27** : 147-151.
- 片山新太 (2000). 土壌中の農薬分解に関する微生物群の構造と挙動. 農薬誌. **25** : 300-309.
- 加藤 保・豊田一郎 (1991). 殺菌剤、除草剤が土壌微生物活性に及ぼす影響. 愛知農総試研報. **23** : 303-312.
- 川西琢也・木村展治・尾崎保夫・米山忠克 (1991). カラムによる脱窒過程<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N分別係数の測定. 土肥誌. **62** : 424-426.
- 河崎利夫・森次益三 (1990). II 培地のアンモニア態窒素および硝酸態窒素と植物の生長, 養液栽培と植物栄養. 日本土壌肥科学会編. 29-53. 博友社. 東京.
- 木村龍介 (1986). 49 硝化能, 土壌標準分析・測定法. 土壌標準分析・測定委員会編. pp.312-320. 博友社. 東京.
- 厚生労働省健康局水道課長 (2003). 健水発第1010001号.
- 栗原 淳 (1991). 肥料の種類と性質. 最新土壌・肥料・植物栄養辞典 (増訂版). 三井進午監修. pp.229-298. 博友社. 東京.
- Kuroshima, T. and Hayano, K. (1982). Phospholipase C activity in soil, *Soil Sci. Plant Nutr.* **28** : 535-542.
- 織塚昭三・山本広基 (1998). III. 土壌中における農薬の挙動, 土と農薬. pp.45-122. 日本植物防疫協会. 東京.
- Mariotti, A., Germon, J. C., Hubert, P., Kaiser, P., Letolle, R., Tardieux, A. and Tardieux P. (1981). Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes, *Plant and Soil* **62** : 413-430.
- Mariotti, A., Landreau, A. and Simon, B. (1988). <sup>15</sup>N isotope biogeochemistry and natural denitrification process in groundwater: Application to the chalk aquifer of northern France, *Geochim. Cosmochim. Acta* **52** : 1869-1878.
- 丸 諭 (1991). 水系環境における農薬の動態に関する研究, 千葉農試特報. **18** : 1-62.
- 松丸恒夫・米山忠克・松岡義浩 (1989). トマトおよびコムギを用いた窒素過剰障害の発生機作の解明. 土肥誌. **60** : 391-398.
- 松丸恒夫 (2003). 窒素肥料有効利用のための施肥法, 農林水産技術研究ジャーナル. **26** : 15-20.
- 松中昭一 (1998). 第4章 農薬の効用 (経済性). 新農薬学 21世紀農業における農薬の新使命. pp.41-50. ソフトサイエンス社. 東京.
- McCall, P. J., Swann, R. L., Laskowski, D. A., Unger, S. M., Vrona, S. A. and Dishburger, H. J. (1980). Estimation of chemical mobility in soil from liquid chromatographic retention. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **24** : 190-195.
- 陽 捷行・大西 将・福士定雄 (1983). 土壌中の硝酸化成の過程で発生するN<sub>2</sub>O. 土肥誌. **54** : 277-280.
- 宮本史明 (1997). コカブ (秋どり栽培). 最新野菜ハンドブック. 最新野菜ハンドブック編集委員会編.

- pp.342-343. 千葉県農業改良協会. 千葉.
- 森田明雄・太田 充 (2001). 小型反射式光度計システムによるチャのシュウ酸の簡易測定法. 土肥誌. 72 : 274-276.
- 森次益三・河崎利夫 (1981). 作物生育ならびに無機養分吸収に及ぼす窒素源の影響 2. 窒素限定供給栽培法の場合. 土肥誌 52 : 20-26.
- Motonaga, K., Takagi, K. and Matsumoto, S. (1998). Suppression of chlorothalonil degradation in soil after repeated application. *Environ. Toxicol. Chem.* 17 : 1469-1472.
- 元永 圭・高木和広・松本 聡 (2001). 殺菌剤TPNおよび代謝物の農薬連用圃場における垂直分布. 土肥誌. 72 : 432-434.
- 中村幸二 (1993). 農耕地の土壌・水圏環境における農薬の動態に関する研究. 埼玉農試研報. 46 : 1-124.
- 日本植物防疫協会編(2005). 農薬の生産, 出荷, 農薬要覧-2005-. 農林水産省消費・安全局農産安全管理課・植物防疫課監修. pp.3-204. 日本植物防疫協会. 東京.
- 農林水産省・環境省 (2003). 農林水産省・環境省令第5号.
- 農林水産省生産局 (2002). 農薬に含まれるダイオキシン類の調査結果について.
- 奴田原誠克・市原 勝(1990). 土壌中における農薬の残留性と縦移動. 高知農林研報. 22 : 17-24.
- 荻山和裕・角田 泰・田中 薫・高橋義行・藤田俊一・小林裕子・杉山 浩 (2002). 畑圃場における農薬鉛直浸透評価法としての土壌コア試験. 農薬誌 27 : 24-30.
- レイチェル・カーソン (1989). 沈黙の春, 青樹築一訳. 309pp. 新潮社. 東京.
- 佐久間敏雄・飯塚文男・岡島秀夫(1976). 畑土壌における水分と無機塩類の挙動 (第2報) イオン交換をともなう流出過程の検討. 土肥誌. 47 : 470-476.
- 佐藤 匡 (1994). 第12章 農薬と土壌の微生物. 土の微生物. 微生物研究会編. pp.389-419. 博友社. 東京.
- Somasundaram L., Coats J. R. and Racke K. D. (1991). Mobility of pesticides and their hydrolysis metabolites in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 10 : 185-194.
- 孫 鉄珩・橋本知義・和田秀徳・高井康雄 (1985). 各種有機質資材の投与が農薬連用土壌の微生物相および活性に及ぼす影響. 土肥誌. 56 : 31-36.
- 鈴木直治 (1979). IV-3.2 殺菌剤. 農薬-デザインと開発指針-. 山本 出・深見順一編. pp.929-977. ソフトサイエンス社. 東京.
- Suzuki, S. (2000). Leaching of several pesticides in andosol upland field under natural rain conditions. *J. Pesticide Sci.* 25 : 1-9.
- Takagi, K., Wada, H., Yamazaki, S. (1991). Effect of longterm application of a fungicide, chlorothalonil (TPN) on upland ecosystem. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37 : 583-590.
- 高木和広 (1991). 農薬の長期連用が土壌生態系に及ぼす影響とその変動解析. 学位請求論文. 東京大学大学院農学研究科. 1-136.
- 高木和広・渡辺裕純・石坂真澄(2001). 二重構造大型ライシメーターを用いた黒ボク畑土壌での酸アミド系除草剤の降下浸透実態調査. 日本農薬学会第26回大会講演要旨集. 130.
- 建部雅子・米山忠克 (1995). 作物栄養診断のための小型反射式光度計システムによる硝酸および還元型アスコルビン酸の簡易測定法. 土肥誌. 66 : 155-158.
- 建部雅子 (1999). 窒素栄養の制御による作物品質成分の改善に関する研究. 農研センター研報. 31:19-83.
- 田中福代・金 太恒・米山忠克 (2000). ガスクロマトグラフ-燃焼-同位対比質量分析計によるハウレンソウ中のシュウ酸の炭素同位体組成分析法. 日本農芸化学会誌 74 : 3-5.
- 谷川元一・西村憲三 (1999). 水田に散布した除草剤の水および土壌中の濃度推移. 奈良農試研報. 30 : 17-22.
- 田瀬則雄・佐伯明義・伏脇裕一(1989). 浅間山北麓における殺菌剤PCNBによる地下水汚染. 地下水学会誌. 31 : 31-37.
- 田代 豊・谷山鉄郎(1996). 集約的農業地域・奄美群島沖永良部島における地下水への農薬混入. 日作紀. 65 : 77-86.
- 程 為国・中島泰弘 (2005). 4-II 窒素負荷の同位体利用. 続・環境負荷を予測する. 波多野隆介・犬伏和之編. pp.172-186. 博友社. 東京.
- シーア コルボーン・ダイアン ダマノスキ・ジョン ピーターソン マイヤーズ (1998). 奪われし未来. 長尾 力訳. 364pp. 翔泳社. 東京.
- Tu, C. M. (1970). Effect of four organophosphorus insecticides on microbial activities in soil. *Appl. Microbiol.* 19 : 479-484.
- Tu, C. M. (1993). Effect of fungicides, captafol and chlorothalonil, on microbial and enzymatic activities in mineral soil, *J. Environ. Sci. Health.* B28 : 67-80.
- 上杉康彦・有江 力・山口 勇・岡崎 博(1995). 3. 殺菌剤. 植物病理学事典. 日本植物病理学会編. pp.

- 797-808. 養賢堂. 東京.
- 上杉康彦・上路雅子・腰岡政二編 (1997). 最新農薬データブック. pp.34-413. ソフトサイエンス社. 東京.
- 上路雅子, 小林裕子, 中村幸二編著 (2001). Chlorothalonil (TPN, ダコニール). 2002年版 残留農薬分析法. pp.112-113. ソフトサイエンス社. 東京.
- Vincent, P. G. and Sisler, H. D. (1968). Mechanism of antifungal action of 2,4,5,6-tetrachloro-isophthalonitrile. *Physiol. Plant.* 21 : 1249-1264.
- 渡辺 武・石川隆之・陽 捷行 (1999). 肥効調節型肥料および硝酸化成抑制剤入り肥料による亜酸化窒素の発生抑制効果. *土肥誌.* 70. 747-753.
- Weber J. H. and Keller K. E. (1994). Mobility of Pesticides in Field Lysimeters. *Mechanisms of Pesticide Movement into Ground Water.* Ed. by Honeycutt, R. C. and Schabacker D. J. pp.43-62. CRC Press. inc.. Boca Raton.
- 山本幸洋・金子文宜・丸 論 (1997). パンライシメータ法による砂質露地畑における農薬鉛直浸透量の測定. *日本農薬学会第22回大会要旨集.* 105.
- 山本幸洋・金子文宜・尾崎保夫・高崎 強 (1998). 砂質露地畑における農薬鉛直浸透量のキャピラリーライシメータ法とパンライシメータ法による測定の比較. *日本農薬学会第23回大会要旨集.* 98.
- 山本幸洋 (1999a). 埋設型ライシメータによる農薬鉛直浸透量の測定. 畑地からの硝酸態窒素溶脱量のモニタリングに関する実務問題検討会. 109-111.
- 山本幸洋 (1999b). 水田からの農薬流出のモニタリング. 農工研特別セミナー「限りなき地球…次世代に残したいもの」. 48-51.
- 山本幸洋 (1999c). 埋設型ライシメータによる農薬鉛直浸透量の測定. *農薬環境科学研究.* 7 : 49-51.
- 山本幸洋・金子文宜 (2000). 砂質露地畑におけるパンライシメータ法による農薬鉛直浸透量の測定. *農薬誌.* 25 : 207-211.
- 山本幸洋・大塚英一・尾崎保夫・金子文宜・松丸恒夫 (2000). 土における埋設型ライシメータ集水部の壁高の検討. *日本土壤肥科学会関東支部大会講演要旨集.* 6.
- 山本幸洋・大塚英一・尾崎保夫・松丸恒夫 (2001). 自然降水条件下の黒ボク土における埋設型ライシメータ集水部壁高の検討とその集水特性. *日本土壤肥科学会関東支部大会講演要旨集.* 30.
- 山本幸洋・田中福代・藤原伸介・高木和広・松丸恒夫 (2002). 殺菌剤クロロタロニルによる土壌のアンモニア酸化能抑制作用. *日本農薬学会第27回大会要旨集.* 43.
- 山本幸洋・田中福代・藤原伸介・高木和広・松丸恒夫 (2003). 殺菌剤クロロタロニルによる土壌のアンモニア酸化能抑制作用(2) - 抑制に関与する化学構造とアンモニア酸化細菌への影響 -. *日本農薬学会第28回大会要旨集.* 116.
- 山本幸洋・田中福代・藤原伸介・松丸恒夫 (2004). 畑土壌中のクロロタロニル消失過程における炭素同位体分別. *農薬誌.* 29 : 53-56.
- 山本幸洋 (2004). 砂質露地畑における埋設型ライシメータ法を用いた農薬鉛直浸透量の測定. *植調.* 38 : 282-285.
- 山本幸洋・金子文宜・大塚英一・松丸恒夫 (2005). 砂質露地畑における牛ふん炭施用による農薬鉛直浸透抑制効果. *日本農薬学会第30回記念大会講演要旨集.* 64.
- 山本幸洋・藤原伸介・田中福代・高木和広・松丸恒夫 (2007). 殺菌剤クロロタロニルによる土壌中のアンモニア酸化阻害. *土肥誌.* 78 : 15-22.
- 米山伸吾・安東和彦・都築司幸 (1990). 殺菌剤. *農薬便覧.* 第10版. pp.2-395. 農文協. 東京.
- 米山忠克 (1987). 土壌-植物系における炭素, 窒素, 酸素, 水素, イオウの安定同位体自然存在比: 変異, 意味, 利用. *土肥誌.* 58 : 252-268.
- 米山忠克・笹川英夫 (1994). 土壌-植物系における炭素, 窒素, 酸素, 水素, イオウの安定同位体自然存在比: 1987年以降の研究の進歩. *土肥誌.* 65 : 585-598.
- 米山忠克 (1996). GC/C/MSによるナノモル量化合物の<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>Cおよび<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>Nの自然存在比のオンライン分析. *化学と生物.* 34 : 464-465.

## Summary

# The Behavior and Physiological Actions of the Fungicide Chlorothalonil in Upland Soil

Yukihiro YAMAMOTO

The present study was undertaken in order to clarify the behavior and physiological actions of chlorothalonil (tetrachloroisophthalonitrile, a major fungicide in Japan) in upland soil. In addition, the physico-chemical and physiological properties of chlorothalonil were compared with those of other chemicals as controls.

### 1. Measurement of chlorothalonil leaching using the pan lysimeter method on a sandy upland field

The extent of chlorothalonil leaching was measured by using the pan lysimeter method on a sandy upland field. A collecting pan (30×30 cm) in the lysimeter was installed into the soil profile horizontally at 50 cm below the soil surface. The total volume of leachate and its ratio to the total rainfall during the monitoring period (125 days) were 608.2 mm and 65 %, respectively. The test chemicals were chlorothalonil, simazine, diazinon, metolachlor, dimethoate and  $\text{Cl}^-$  as a tracer. Chlorothalonil, diazinon and metolachlor were not detected in the leachate. The maximum concentrations of dimethoate and simazine were 18.4 ppb and 1.0 ppb, respectively. During the monitoring period, the total mass of pesticide leaching and its ratio to the application rate for dimethoate were 2.99 mg/m<sup>2</sup> and 3.5 %, respectively. The corresponding values for simazine were 0.33 mg/m<sup>2</sup> and 0.4 %, respectively.

### 2. Carbon isotope fractionation during chlorothalonil dissipation in an upland soil

A change in the standing of the  $\delta^{13}\text{C}$  value of a pesticide during its dissipation in an upland soil was investigated. Chlorothalonil as a test chemical was added to the soil (light-colored Andosol) and incubated at 30 °C in the dark. The  $\delta^{13}\text{C}$  value of chlorothalonil in the soil increased from -26.5 to -22.5 ‰ during the incubation period of 70 days. The enrichment factor in this study was -2.6 ‰. These results suggest the occurrence of carbon isotope fractionation during the dissipation of chlorothalonil in the soil environment.

### 3. Inhibition of soil ammonia oxidation by a fungicide, chlorothalonil

We investigated the mechanisms by which soil ammonia oxidation is inhibited by chlorothalonil, as well as the degrees of inhibition. Chlorothalonil, thiram, triflumizole, tolclofos-methyl, iprodione, flutolanil, hexaconazole, isoprothiolane, benomyl, and metalaxyl (50 mg kg<sup>-1</sup>) were applied to the soil (light-colored Andosol) in combination with ammonium sulfate (200 mg N kg<sup>-1</sup>). Chlorothalonil and thiram strongly inhibited soil ammonia oxidation among the fungicides tested. The duration of the inhibition induced by chlorothalonil was longer than that induced by a nitrification inhibitor, dicyandiamide. The activity of the inhibition of soil ammonia oxidation by chlorothalonil depended on its application rate. The inhibitory activity of 4-hydroxy-2,5,6-trichloroisophthalonitrile (TPN-OH), a



major metabolite of chlorothalonil in upland soils, was lower than those of chlorothalonil and dicyandiamide. The activity of tetrachloroterephthalonitrile (TTPN), an isomer of chlorothalonil, was lower than that of chlorothalonil. Isophthalonitrile (IPN), terephthalonitrile (TePN), phthalonitrile (PN), benzonitrile (BN), and 1,2,3,5-tetrachlorobenzene (TCB) did not inhibit soil ammonia oxidation. Chlorothalonil ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and chloramphenicol ( $500 \text{ mg kg}^{-1}$ ) were added to soil in which ammonium-oxidizing bacteria had been accumulated by repeated application of ammonium sulfate. Both chemicals inhibited soil ammonia oxidation. The number of ammonium-oxidizing bacteria in the chlorothalonil-treated soil decreased from  $10^4 \text{ g}^{-1}$  to  $10^2 \text{ g}^{-1}$  or less for 14 days, while the number of those in the chloramphenicol-treated soil was maintained at  $10^4 \text{ g}^{-1}$  for 21 days. These results suggest that chlorothalonil inhibits soil ammonia oxidation by acting on ammonium-oxidizing bacteria lethally, that both nitrile and chlorine in the structure of chlorothalonil are indispensable to its inhibitory action and that their arrangement in the molecules significantly affects chlorothalonil's activity.

#### 5. Influence of chlorothalonil application on the growth and quality of crops

We investigated the effect of chlorothalonil on the growth and N uptake of turnip (*Brassica rapa* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.). Furthermore, the effects of chlorothalonil on the concentrations of nitrate, oxalic acid and ascorbic acid in spinach were analyzed. These crops were cultivated with or without chlorothalonil application ( $4 \text{ g m}^{-2}$ ) in the soil (Gray lowland soil). To determine the difference in the fertilizer nitrogen absorption of the crops,  $^{15}\text{N}$ -labeled ammonium sulfate (3.10 atom%,  $10 \text{ g N m}^{-2}$ ) was used. The growth of the turnip was reduced by chlorothalonil application, and the reductions of plant length, fresh weight and fertilizer nitrogen absorption were 8.49, 23.8 and 22.1%, respectively. On the other hand, chlorothalonil application did not affect the growth of spinach, nor the concentrations of nitrate, water-soluble oxalic acid or ascorbic acid in spinach.